

3. Hladovec, J. Circulating endothelial cells as a sign of vessels wall lesions / J. Hladovec // *Physiologia bohemoslovaca* – 1978. – Vol.27. – P.140-144.

4. Модифицированный метод определения NO_3 и NO_2 с помощью цинковой пыли в присутствии аммиачного комплекса сульфата меди / И.С. Веремей [и др.] // *Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования: сб. тр. республиканской научно-практической конференции / Витебск. гос. мед. ун-т. – Витебск, 2000. – С.112-115*

5. Гаврилов, В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гептановых и изопропиловых экстрактов / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Н.Ф. Хмара // *Лабораторное дело. – 1998. – №2. – С.60-64.*

УЧАСТИЕ МОНООКСИДА АЗОТА В СПИНАЛЬНЫХ МЕХАНИЗМАХ ФОРМИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ ВАЗОМОТОРНЫХ ВОЛОКОН БРЮШНОГО АОРТАЛЬНОГО СПЛЕТЕНИЯ КРЫСЫ

Руткевич С.А.¹, Чумак А.Г.²

*УО «Белорусский государственный университет»¹,
ГНУ «Институт физиологии»² НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь*

За три десятилетия истории изучения роли монооксида азота (NO) в регуляции тонуса сосудов выявлен его вклад не только в эндотелий-зависимую вазодилатацию, но и формирование активности симпатических эфферентных нейронов. Известно, что подавление продукции эндогенного монооксида азота, вызываемое системным введением ингибитора конститутивных форм синтазы NO (NOS), приводит к симпатоактивации и увеличению артериального давления. Вместе с тем, ингибиторы NOS, вводимые в некоторые области головного мозга (например, в каудальные вентролатеральные отделы продолговатого мозга) приводят к снижению артериального давления [1,2].

Конечный эффект определяется влиянием препаратов на различные, часто функционирующие реципрокно, популяции промежуточных нейронов в ЦНС. Интернейроны, способные воспринимать NO или его синтезировать идентифицированы в интермедиолатеральной зоне спинного мозга (CM) и

дорсальном роге [1], однако о регуляторных влияниях NO, возникающих на сегментарном уровне и адресованных гладким мышцам сосудов, данных недостаточно.

Целью экспериментальных исследований, таким образом, стал электрофизиологический и фармакологический анализ влияния NO-активных препаратов, вводимых под оболочки спинного мозга, на реализацию спонтанной и рефлекторно вызванной импульсации в эфферентных волокнах брюшного аортального сплетения крысы.

Материал и методы исследования. Опыты проведены на 24 взрослых крысах (250-300 г), находящихся под тиопенталовым наркозом (70 мг/кг). Нервные стволы (брюшноаортальный, общий брыжеечный и подкожный нерв бедра) препарировались, перерезались и помещались на хлорсеребряные биполярные подвесные электроды для регистрации симпатической эфферентной импульсации (СЭИ) или электростимуляции афферентных волокон.

Регистрировали тоническую и вызванную рефлекторно (фазическую) импульсацию в проводниках брюшного аортального сплетения. Стимуляцию двух других нервных стволов осуществляли прямоугольными электрическими стимулами (1 мс, 5 В) с частотой 10 Гц. Для инфузии растворов неселективного ингибитора NOS N^G -Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME 60 мкг в 20 мкл искусственного ликвора) и химического донора NO sodium nitroprusside (SNP 10^{-4} моль/л объемом 10 мкл) под оболочки спинного мозга (СМ) применяли метод интратекального введения препаратов (к Th₈-Th₁₀ сегментам), описанный в [3]. В качестве контроля использовали искусственную спинномозговую жидкость (ИСМЖ) и инактивированный донор NO, вводимые в ликвороносное пространство СМ в тех же объемах и концентрациях, что и используемые препараты.

Обработка зарегистрированных электрических сигналов выполнялась на стандартной компьютеризированной электрофизиологической установке с помощью оригинальной программы «Inputwin» [4]. Статистический анализ данных проводился с использованием *t*-критерия Стьюдента для парных выборок и однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Данные считались достоверными при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Как было ранее установлено [5], супрамаксимальная (5 В) ритмическая (1-20 Гц) стимуляция афферентных волокон висцерального и соматического нервов вызвала массивное увеличение частоты СЭИ в проводниках брюшноаортального сплетения, которое превышало уровень тонической активности (исходной) в 1.5-3 раза и отражало активацию «молчащих» пре- и постганглионарных нейронов. Они были идентифицированы как сосудодвигательные, поскольку в специальных опытах с применением телевизионной микроскопии при их рефлекторной активации выявлено изменение просвета сосудов (вазоконстрикция) серозной оболочки толстой кишки, что визуально проявлялось в ее побледнении.

В той же серии экспериментов, в которой животным интратекально вводили L-NAME ($n=9$) зарегистрировано продолжительное (не менее 2-х часов) снижение частоты тонической СЭИ, которое к 40-ой минуте после инъекции было достоверным (от $27,0 \pm 3,2$ до $17,5 \pm 1,1$ имп/с; $P < 0,001$). Модифицировалась также и рефлекторная реакция СЭИ. Частота осцилляции в проводниках брюшного аортального сплетения снижалась от $67,6 \pm 5,7$ до $17,3 \pm 2,7$ имп/с ($P < 0,001$) при стимуляции брыжеечного нерва и от $48,6 \pm 3,2$ имп/с до $32,8 \pm 5,8$ имп/с в процессе воздействия на подкожный нерв бедра.

В свою очередь химический донор NO нитропруссид натрия, инъецированный под оболочки СМ, вызывал преходящую кратковременную (со 2-ой по 4-ую минуту после впрыскивания) активацию спонтанной СЭИ в филаментах брюшноаортального сплетения. Частота импульсов увеличилась от $24,8 \pm 1,7$ имп/с в фоне до $35,8 \pm 3,5$ имп/с на 3-ей минуте после его введения ($P < 0,05$; $n=8$). В другой группе животных ($n=7$) на 3-ей минуте после введения донора NO в процессе стимуляции афферентных проводников висцерального нерва импульсация возросла от $71,5 \pm 2,5$ имп/с в фоне до $80,9 \pm 2,5$ имп/с ($P < 0,03$), а при раздражении подкожного нерва бедра — от $61,6 \pm 1,5$ имп/с до $71,6 \pm 2,1$ имп/с ($P=0,002$). Усиление рефлекторной реакции отражает облегченную в этих условиях активацию сосудодвигательных симпатических волокон.

Поскольку электростимуляция афферентных проводников в примененной модели имитирует ноцицептивное раздражение, то на основании полученных данных можно полагать, что супрамаксимальное, ритмическое раздражение

соматических (кожи) и висцеральных (кишки) афферентов вызывает принципиально сходные по проявлениям вегетативные компоненты болевых реакций.

Они проявляются в усилении СЭИ в брюшноаортальных проводниках, что можно рассматривать как доказательство конвергенции афферентных сигналов на общих нервных сетях, управляющих тонусом сосудов внутренних органов при перераспределении межорганного кровотока в условиях ноцицептивной стимуляции.

Заключение. Результаты свидетельствуют о том, что монооксид азота на спинальном уровне вовлечен в процессы активации как тонических симпатических эфферентных нейронов, так и фазических единиц, «молчащих» в условиях действия регуляторных симпатических механизмов.

Работа выполнена по гранту БРФФИ № Б09К-063.

Литература:

1. Arnolda L.F., McKittrick D.J., Llewellyn-Smith I.J., Minson J.B. Nitric oxide limits pressor responses to sympathetic activation in rat spinal cord // *Hypertension* – 2000 – Vol. 36. – P 1089-1092.
2. Hakim MA, Hirooka Y, Coleman MJ, Bennett MR, Dmapney RAL. Evidence for a critical role of nitric oxide in the tonic excitation of rabbit renal sympathetic preganglionic neurons / *J. Physiol* – 1995 - Vol.482, N2. – P.401–407.
3. Руткевич С.А., Поленов С.А. Чумак, А.Г., Кульчицкий В.А. Особенности импульсации симпатических эфферентных волокон брюшно-аортального нерва после интратекального введения субстрата и ингибитора NO-синтазы // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2009. – Т. 147, №3. – С.249-254.
4. Солтанов В.В., Бурко В.Е. Компьютерные программы обработки электрофизиологических данных // *Новости медико-биологических наук*. – 2005. – №1 – С.90–96.
5. Руткевич С.А., Чумак А.Г. Возбуждающие и тормозные влияния соматических афферентных волокон на активность фазических симпатических эфферентных нейронов // *Вестник Белорусского государственного университета. Серия 2*. – 2008. – №1. – С.59-63.